

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste trabalho será disponibilizado somente a partir de 21/02/2019.



unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"



FENOLOGIA E BIOLOGIA REPRODUTIVA DE ESPÉCIES DE *PIPER* (PIPERACEAE) EM FLORESTA ESTACIONAL SEMIDECÍDUA: ASPECTOS ECOLÓGICOS E FILOGENÉTICOS

ADRIANO VALENTIN DA SILVA

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica), Área de concentração Morfologia e Diversidade Vegetal.

**BOTUCATU – SP
2017**

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita Filho”

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

FENOLOGIA E BIOLOGIA REPRODUTIVA DE ESPÉCIES DE
PIPER (PIPERACEAE) EM FLORESTA ESTACIONAL
SEMIDECÍDUA: ASPECTOS ECOLÓGICOS E FILOGENÉTICOS

ADRIANO VALENTIN DA SILVA

Prof.^a Dr.^a ELZA MARIA GUIMARÃES SANTOS
ORIENTADORA

Prof. Dr. MARCO ANTÔNIO PORTUGAL LUTTEMBARCK BATALHA
COORIENTADOR

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica), Área de concentração Morfologia e Diversidade Vegetal.

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Silva, Adriano Valentin da.

Fenologia e biologia reprodutiva de espécies de *Piper*
(Piperaceae) em floresta estacional semidecídua : aspectos
ecológicos e filogenéticos / Adriano Valentin da Silva. -
Botucatu, 2017

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio
de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu
Orientador: Elza Maria Guimarães Santos
Coorientador: Marco Antônio Portugal Luttembarck Batalha
Capes: 20300000

1. Fenologia vegetal. 2. Plantas - Reprodução. 3. Plantas
- Filogenia. 4. Polinização. 5. Piperacea.

Palavras-chave: andromonoiccia; entomofilia; protoginia
incompleta; sinal filogenético.

AGRADECIMENTOS

À UNESP e ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Botânica) pela oportunidade de realização do doutorado e pelo apoio logístico.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela bolsa concedida, que me permitiu pagar as minhas contas em dia e os gastos das atividades de campo.

À Prof.^a Dr.^a Elza Guimarães por aceitar me orientar em uma situação inesperada, pelos ensinamentos ao longo desses quatro anos, em especial sobre o cuidado do uso adequado de termos e de evitar a linguagem finalista, e pela oportunidade de coorientar três trabalhos de conclusão de curso.

Ao Prof. Dr. Marco Batalha pela coorientação, pelos ensinamentos sobre elaboração de projeto e redação científica e pelo suporte nas análises estatísticas.

Aos membros da banca de projeto, Dr. Anselmo Nogueira e Dr. Tadeu de Siqueira Barros, pelas contribuições nessa fase inicial do trabalho.

Ao Departamento de Engenharia Florestal da UFV pela autorização para realizar meu trabalho de campo na Mata do Paraíso.

Aos funcionários da Mata do Paraíso, principalmente Wanderly, pelo apoio moral nas atividades de campo.

À Elsie Franklin Guimarães e Micheline Carvalho-Silva pela confirmação da identificação das espécies de *Piper*.

Ao Yanjun Du da Academia de Ciências Chinesa pelo apoio na análise de sinal filogenético no capítulo de fenologia.

Ao Hugo de Azevedo Werneck e José Luis Benavides López pela identificação dos visitantes florais.

Às equipes dos herbários BOTU, RB e VIC pelo apoio durante a análise de exsicatas.

Ao herbário UB pelo empréstimo de exsicatas.

Ao Centro de Microscopia Eletrônica do Instituto de Biociências e ao Laboratório de Bacteriologia Vegetal da Faculdade de Ciências Agrárias, UNESP – câmpus Botucatu, pelo apoio nas análises de microscopia eletrônica de varredura.

Aos membros da banca de qualificação, Dr. Anselmo Nogueira e Dr.^a Rita de Cássia Sindrônia Maimoni-Rodella, pelas sugestões na primeira versão da tese.

Aos membros da banca de defesa, Dr. Felipe Wanderley Amorim, Dr.^a Milene Faria de Vieira e Dr. Rodolfo Antônio de Figueiredo, pelas valiosas contribuições para a tese.

Aos antigos membros do Laboratório de Ecologia e Evolução das Interações Planta-Animal, que me acolheram tão bem em 2013. O carinho de vocês fez toda a diferença na minha adaptação em Botucatu.

Ao pessoal da salinha da pós e do herbário VIC por permitirem usar sua estrutura e apoio durante os dois anos e meio de trabalho de campo em Viçosa.

À Erika Ono, Priscila Tunes e Vinícius Alves por me aceitarem como coorientador nos seus TCCs; apesar dos trabalhos não estarem vinculados à minha tese, aprendi bastante com essas experiências.

Aos amigos dos tempos de graduação e mestrado, Cris, Dya, Lívia, Luana, Márcia, Simone e Van, mesmo com a distância nossa amizade não diminuiu.

Aos companheiros da república Toca Gado em Viçosa pelos papos cabeça e bons momentos de descontração.

Aos novos amigos que fiz em Viçosa, principalmente Dani, Gabi, Guilherme e Ronaldo. A vida sem vocês em Viçosa teria sido bem mais difícil.

À Milene pelos cafés, conversas e conselhos ao longo do doutorado.

Às meninas do LabEco, Bruna, Camila, Marília e Priscila, pelo apoio mesmo a distância.

À Priscila pela revisão de inglês no manuscrito de fenologia.

À Bruna, Camila e Marília pela amizade e pelas sessões de terapia coletiva.

À Dani, Marília e Ronaldo pelo auxílio na observação de visitantes florais durante alguns dias de campo.

À minha família pelo carinho e apoio ao longo de toda minha vida acadêmica!

SUMÁRIO

RESUMO	1
ABSTRACT	2
INTRODUÇÃO GERAL	3
REFERÊNCIAS.....	4
CAPÍTULO 1 - Fenologia reprodutiva de espécies neotropicais de Piper (Piperaceae) em floresta estacional semidecídua: abordagens ecológica e filogenética.....	6
RESUMO.....	6
INTRODUÇÃO	7
MATERIAL E MÉTODOS	8
Área de estudo e espécies estudadas	8
Fenologia reprodutiva	9
Estacionalidade e associação com variáveis abióticas	10
Sinal filogenético.....	10
RESULTADOS	11
Fenologia reprodutiva	11
Estacionalidade e associação com variáveis abióticas	11
Sinal filogenético.....	12
DISCUSSÃO	15
REFERÊNCIAS.....	16
MATERIAL SUPLEMENTAR	22
CAPÍTULO 2 - Os polinizadores podem influenciar a diversificação floral em espécies generalistas? Evidências a partir de espécies neotropicais de <i>Piper</i>	23
RESUMO.....	23
INTRODUÇÃO	24
MATERIAL E MÉTODOS	25
Área de estudo e espécies estudadas	25
Sistema de polinização	27
Caracteres florais e dos visitantes florais	28
RESULTADOS	31

Sistema de polinização	31
Caracteres florais e dos visitantes florais	33
DISCUSSÃO	33
REFERÊNCIAS.....	38
MATERIAL SUPLEMENTAR.....	43
CAPÍTULO 3 - Espécies neotropicais de <i>Piper</i> : são todas hermafroditas?	50
RESUMO.....	50
INTRODUÇÃO	51
MATERIAL E MÉTODOS	52
Área de estudo e espécies estudadas	52
Expressão sexual	52
RESULTADOS	54
DISCUSSÃO	58
REFERÊNCIAS.....	60
INFORMAÇÃO SUPORTE.....	63
CAPÍTULO 4 - Dinâmicas de liberação de pólen e exposição estigmática em espécies neotropicais de <i>Piper</i> : um possível padrão para o gênero	67
RESUMO.....	67
INTRODUÇÃO	68
MATERIAL E MÉTODOS	69
RESULTADOS	71
DISCUSSÃO	75
LITERATURA CITADA	77
APÊNDICE	79
CONSIDERAÇÕES FINAIS	80

RESUMO

Estudamos diferentes aspectos relacionados à biologia reprodutiva de *Piper*, tendo como plano de fundo o parentesco filogenético entre espécies coocorrentes e utilizando diferentes níveis de amostragem, desde a taxocenose até a flor. No capítulo 1, avaliamos a fenologia reprodutiva de 17 espécies de *Piper* em uma floresta estacional semidecídua para verificar se o clima e o parentesco filogenético estão associados às respostas fenológicas dessas espécies coocorrentes. Apenas a floração apresentou sinal filogenético e foi estacional. A frutificação foi influenciada por fatores abióticos, enquanto a floração teve uma influência compartilhada de fatores abióticos e das restrições filogenéticas. Assim, verificamos que mesmo em ambientes estacionais, pode haver influência da filogenia nos eventos reprodutivos. No capítulo 2, avaliamos o sistema de polinização e testamos se os caracteres florais e dos polinizadores estão correlacionados para verificar se os polinizadores podem ter mediado a diversificação floral em espécies fenotipicamente generalistas. As espécies são entomófilas e foram visitadas por 46 espécies de abelhas, besouros, mirídeos e moscas. Portanto, são ecológica e funcionalmente generalistas. Não houve correlação entre os caracteres florais e os dos visitantes florais, o que sugere que os caracteres analisados não representam adaptações aos polinizadores. Outros fatores, p. ex. ambientes-chave, devem estar relacionados com a diversificação do gênero. No capítulo 3, determinamos a expressão sexual das espécies, com enfoque na funcionalidade das flores ao longo da antese, para verificar se existem variações do hermafroditismo, caráter considerado como universal nas espécies neotropicais do gênero. Observamos variações dessa expressão sexual em quase 25% das espécies aqui estudadas. E no capítulo 4, determinamos se existe um padrão de liberação de pólen e exposição estigmática em espécies neotropicais de *Piper*, independentemente dos números de estames e carpelos e da sexualidade da flor. A dinâmica dos eventos florais foi semelhante entre as espécies: a exposição e senescência estigmática ocorreu de forma sequencial e gradual em sentido basípeto e a liberação de pólen foi assíncrona e sequencial. Como as espécies aqui estudadas pertencem a diferentes clados do gênero, essas características devem ser um padrão para as espécies neotropicais de *Piper*.

ABSTRACT

We studied different aspects related to the reproductive biology of *Piper*, having as background the phylogenetic relationship among the species and using different levels of sampling, from the taxocoenosis to the flower. In chapter 1, we evaluated the reproductive phenology of 17 *Piper* species in a semideciduous seasonal forest to verify whether climate and phylogenetic relationship are associated with the phenological responses of these co-occurring species. Only flowering showed phylogenetic signal and was seasonal. Fruiting was influenced by abiotic factors, whereas flowering had a shared influence of abiotic factors and phylogenetic constraints. Thus, even in seasonal environments, there may be an influence of phylogeny on reproductive events. In chapter 2, we evaluated the pollination system and tested whether floral and pollinator characters are correlated to verify whether pollinators may have mediated floral diversification in phenotypically generalist species. The species are entomophilous and were visited by 46 species of bees, beetles, mirids and flies. So they are ecologically and functionally generalist. There was no correlation between floral characters and floral visitors' characters, which suggests that the analyzed characters do not represent adaptations to the pollinators. Other factors, e.g. key environments, should be related to diversification of this genus. In chapter 3, we determined the sexual expression of species, focusing on the functionality of flowers throughout the anthesis, to verify whether there are variations of hermaphroditism, a character considered as universal in the Neotropical species of the genus. We observed variations of this sexual expression in almost 25% of the species studied here. And in chapter 4, we determined whether there is a pattern of pollen release and stigmatic exposure in Neotropical *Piper* species, independently of the number of stamens and carpels, and flower sexuality. The dynamic of floral events was similar among species: the exposure and senescence of stigmas was sequential and gradual in a basipetal direction, and pollen release was asynchronous and sequential. As the analyzed species belong to different clades of the genus, these characteristics should be a pattern for Neotropical *Piper* species.

INTRODUÇÃO GERAL

Piper é um gênero pantropical e possui cerca de 2.000 espécies (Quijano-Abril et al. 2006), mas a maior diversidade de espécies ocorre na região neotropical (Jaramillo e Manos 2001). No Brasil, está representado por 290 espécies (Guimarães et al. 2015) e a Floresta Tropical Atlântica é um dos centros de diversificação e de endemismos do gênero, com cerca de 150 espécies (Jaramillo e Manos 2001, Quijano-Abril et al. 2006).

As espécies desse gênero são importantes constituintes do sub-bosque de florestas tropicais (Hartshorn e Hammel 1994, Greig 2004) e possuem importância econômica, como *Piper nigrum* (pimenta do reino) que é usada mundialmente como condimento (Greig 2004), e medicinal (Di Stasi et al. 2002, Dyer et al. 2004). Estudos em diversas áreas do conhecimento têm sido realizados utilizando o gênero *Piper*. Em 2004 foi publicado o livro “*Piper: a model genus for studies of phytochemistry, ecology, and evolution*”, que aborda diferentes aspectos ecológicos e evolutivos, como as interações mutualísticas com formigas (Letourneau 2004) e morcegos (Fleming 2004), além da ecologia da polinização (Figueiredo e Sazima 2004). Apesar do conhecimento já existente sobre esse grupo de plantas, algumas questões permanecem em aberto, principalmente após os estudos filogenéticos que redefiniram a circunscrição do gênero (Jaramillo e Manos 2001, Jaramillo et al. 2008). Com base nisso, estudamos diferentes aspectos relacionados à biologia reprodutiva de *Piper*, tendo como plano de fundo o parentesco filogenético entre espécies coocorrentes e utilizando diferentes níveis de amostragem, desde a taxocenose até a flor.

No capítulo 1, avaliamos a fenologia reprodutiva de 17 espécies de *Piper* em uma floresta estacional semidecídua para verificar se o clima e o parentesco filogenético estão associadas às respostas fenológicas dessas espécies coocorrentes. No capítulo 2, avaliamos o sistema de polinização e testamos se os caracteres florais e dos polinizadores estão correlacionados para verificar se os polinizadores podem ter mediado a diversificação floral em espécies fenotipicamente generalistas. No capítulo 3, determinamos a expressão sexual das flores e das plantas, com enfoque na funcionalidade das flores ao longo da antese, para verificar se existem variações do hermafroditismo, caráter considerado como universal nas espécies neotropicais do gênero. E no capítulo 4, determinamos se existe um padrão de liberação de pólen e exposição estigmática em espécies neotropicais de *Piper*, independentemente dos números de estames e carpelos e da sexualidade da flor.

REFERÊNCIAS

- Di Stasi, L.C., Hiruma-Lima, C.A., Mariot, A., Portilho, W.G., Reis, M.S. 2002. Piperales medicinais. In: Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica. Di Stasi, L.C., Hiruma-Lima, C.A. (Eds). Editora Unesp: São Paulo. pp. 120-138.
- Dyer, L., Richards, J., Dodson, C. 2004. Isolations, synthesis, and evolutionary ecology of *Piper* amides. In: *Piper: a model genus for studies of phytochemistry, ecology, and evolution*. Dyer, L.A., Palmer, A.D.N. (Eds). Kluwer Academic/Plenum Publishers: New York. pp. 117-139.
- Figueiredo, R.A., Sazima, M. 2004. Pollination ecology and resource partitioning in neotropical *Pipers*. In: *Piper: a model genus for studies of phytochemistry, ecology, and evolution*. Dyer, L.A., Palmer, A.D.N. (Eds). Kluwer Academic/Plenum Publishers: New York. pp. 33-57.
- Fleming, T.H. 2004. Dispersal ecology of Neotropical *Piper* shrubs and treelets. In: *Piper: a model genus for studies of phytochemistry, ecology, and evolution*. Dyer, L.A., Palmer, A.D.N. (Eds). Kluwer Academic/Plenum Publishers: New York. pp. 58-77.
- Guimarães, E.F., Carvalho-Silva, M., Monteiro, D., Medeiros, E.S., Queiroz, G.A. 2015. *Piperaceae*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro: Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB190>. Acesso em: 20 nov 2015.
- Greig, N. 2004. Introduction. In: *Piper: a model genus for studies of phytochemistry, ecology, and evolution*. Dyer, L.A., Palmer, A.D.N. (Eds). Kluwer Academic/Plenum Publishers: New York. pp. 1-4.
- Hartshorn, G.S., Hammel, B.E. 1994. Vegetation types and floristic patterns. In: *La Selva: ecology and natural history of a neotropical rain forest*. McDade, L.A., Bawa, K.S., Hespeneide, H.A., Hartshorn, G.S. (Eds). The University of Chicago Press: Chicago. pp 73-89.
- Jaramillo, M.A., Manos, P.S. 2001. Phylogeny and patterns of floral diversity in the genus *Piper* (Piperaceae). *American Journal of Botany* 88: 706-716.
- Jaramillo, M.A., Callejas, R., Davidson, C., Smith, J.F., Stevens, A.C., Tepe, E.J. 2008. A phylogeny of the tropical genus *Piper* using ITS and the chloroplast intron *psbJ-petA*. *Systematic Botany* 33: 647-660.
- Letourneau, D.K. 2004. Mutualism, anthiherbivore, and trophic cascades: *Piper* ant-plants as a mesocosm for experimentation. In: *Piper: a model genus for studies of phytochemistry, ecology, and evolution*. Dyer, L.A., Palmer, A.D.N. (Eds). Kluwer Academic/Plenum Publishers: New York. pp. 5-32.

Quijano-Abril, M.A., Callejas-Posada, R., Miranda-Esquivel, D.R. 2006. Areas of endemism and distribution patterns for Neotropical *Piper* species (Piperaceae). *Journal of Biogeography* 33: 1266-1278.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As respostas fenológicas de plantas podem ser moduladas por fatores abióticos e pelas restrições filogenéticas. No capítulo 1, registramos nas espécies de *Piper*, estudadas em uma floresta estacional semidecídua, que apenas a floração apresentou sinal filogenético e foi estacional. A frutificação foi influenciada por fatores abióticos, enquanto a floração teve uma influência compartilhada de fatores abióticos e das restrições filogenéticas. Assim, mesmo em ambientes estacionais, pode haver influência da filogenia nos eventos reprodutivos. A presença de sinal filogenético na floração pode estar relacionada com o predomínio da frequência anual dessa fenofase nas espécies de *Piper* aqui estudadas e também em outros tipos de vegetação. Estudos futuros, que amostram um mesmo conjunto de espécies em diferentes populações e na mesma escala temporal, poderão testar essa ideia.

As espécies de *Piper* são entomófilas e foram visitadas por insetos de diferentes ordens, portanto são ecológica e funcionalmente generalistas. Não houve correlação entre os caracteres florais e os dos visitantes florais, o que sugere que os caracteres florais analisados não representam adaptações aos polinizadores. Portanto, corroboramos a ideia de que a diversificação floral em espécies generalistas é pouco influenciada pelas pressões seletivas exercidas pelos polinizadores. Além dos polinizadores, outros fatores podem estar relacionados com a diversificação floral e poderão ser testados futuramente.

No capítulo 3, observamos variações do hermafroditismo em quase 25% das espécies aqui estudadas. Registramos a presença de flores funcionalmente unissexuais masculinas em quatro das 17 espécies analisadas. Como a morfologia floral das espécies de *Piper* é similar, esses resultados reforçam a necessidade de estudos em campo que avaliem a funcionalidade das flores ao longo da antese para determinar a expressão sexual das flores e das plantas. Em decorrência disso, outras espécies não hermafroditas poderão ser encontradas no Neotrópico.

Ao analisarmos as dinâmicas de liberação de pólen e de exposição estigmática, registramos padrão similar entre as espécies. Como essas espécies pertencem a diferentes clados do gênero, esse padrão deve ocorrer em outras espécies neotropicais. Temos evidências que o mesmo pode ocorrer nas espécies paleotropicais, devido à similaridade do desenvolvimento floral e da morfologia das flores bissexuais e unissexuais. Entretanto, seria interessante que estudo semelhante fosse realizado com espécies paleotropicais para confirmar os resultados aqui encontrados como um padrão para o gênero.